

## Direkte kolorimetrische Bestimmung von Alkaloiden aus Papyrogrammen

In der Literatur sind zahlreiche Methoden zur Bestimmung von Alkaloiden nach papierchromatographischer Trennung beschrieben. Die densitometrische oder planimetrische Auswertung der Chromatogramme führt nicht in allen Fällen zu befriedigenden Ergebnissen; die Voraussetzung ist eine regelmässige geometrische Form der Flecke. Zudem muss im allgemeinen für jede Bestimmung eine Standardreihe mit ausgewertet werden.

Häufiger werden daher Verfahren angewendet, die auf einer Elution der Chromatogramme beruhen. Die Lokalisierung der Flecke vor der Bestimmung bereitet bei nicht fluoreszierenden Verbindungen oft Schwierigkeiten und ist auch mit Hilfe von Leitchromatogrammen nicht immer einwandfrei durchzuführen.

Die günstigen Voraussetzungen bieten also Methoden, die eine Bestimmung der Substanzen nach Behandlung mit einem Anfärbereagenz gestatten. Nach Anwendung von Dragendorff-Reagenz können die Flecke eluiert und kolorimetrisch bestimmt werden<sup>1</sup>. Die gleichmässige Durchfeuchtung des Papiers mit dem Reagenz bereitet aber mitunter Schwierigkeiten. ROMEIKE<sup>2</sup> umging bei der Bestimmung der Tropa-Alkaloide diesen Nachteil. Sie zerlegte den Dragendorff-Komplex mit Ammoniak und reinigte die Basen durch mehrfaches Umschütteln vor Durchführung der kolorimetrischen Reaktion. Abgesehen von dem grösseren Arbeitsaufwand versagt diese Methode bei quartären Salzen.

Wir verwenden zur Bestimmung der Alkaloide nach Ausbleichen der Dragendorff-Flecke mit Ammoniak die Indikator-Extraktionsmethode<sup>3</sup>; sie beruht auf der Umsetzung der Basen mit Indikatoren bei einem definierten pH-Wert und Extraktion des Komplexes mit einem organischen Lösungsmittel. Bei Verwendung von Bromthymolblau und Citrat-Puffer, pH 7.5, kann eine grosse Anzahl von Alkaloiden kolorimetrisch bestimmt werden. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer Eichkurve, die direkt an Reinsubstanz erstellt wird.

Wir konnten aus Papierchromatogrammen und Elektropherogrammen Lobelin, Atropin, Codein und Buscopan (N-Butyl-hyoscinbromid) auch in Gemischen bei routinemässiger Ausführung mit einer Reproduzierbarkeit von  $\pm 2\%$  bestimmen.

### Ausführung

Die Probelösung wird mit einer Hamilton-Spritze wie üblich auf der Startline aufgetragen. Als Fließmittel muss ein Amin-freies Gemisch ( $\text{NH}_3$  stört nicht) verwendet werden. Das Trocknen der Chromatogramme erfolgt unter Schutz vor Amin-Dämpfen. Nach dem Trocknen wird mit modifiziertem Dragendorff nach MUNIER UND MACHEBOEUF besprüht und die Substanzflecke mit Bleistift markiert. Der Bogen wird dann in eine Kammer gebracht, die mit Ammoniak-Dämpfen gesättigt ist. Die Flecke bleichen in wenigen Minuten aus, werden dann ausgeschnitten, zerkleinert und in einem Scheidetrichter mit 20 ml Pufferlösung, pH 7.5, einige Minuten geschüttelt. Nach Zugabe von 1 ml Bromthymolblaulösung wird 3 Mal je 20 ml Chloroformlösung ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden in einem 100 ml Messkolben gesammelt, in dem 25 ml Borsäurelösung vorgelegt sind. Zur Abtrennung von Papierfasern und geringen Anteilen der wässrigen Phase können die Chloroformphasen durch ein kleines Silikonfilter (Schleicher & Schüll 595  $1/2$  HY) filtriert werden. Der Messkolben wird dann mit Äthanol zur Marke

aufgefüllt und die Extinktion der Farblösung in 2 cm Küvetten bei 436 nm gegen die Blindausschüttelung eines Papierstückchens von etwa gleicher Grösse wie der Substanzfleck aus dem gleichen Papyrogramm gemessen. Die Farblösung ist stabil. Zur Auswertung wird eine Eichkurve durch Einwaage von Reinsubstanz und Messung gegen einen Reagenzienblindwert erstellt (Fig. 1).

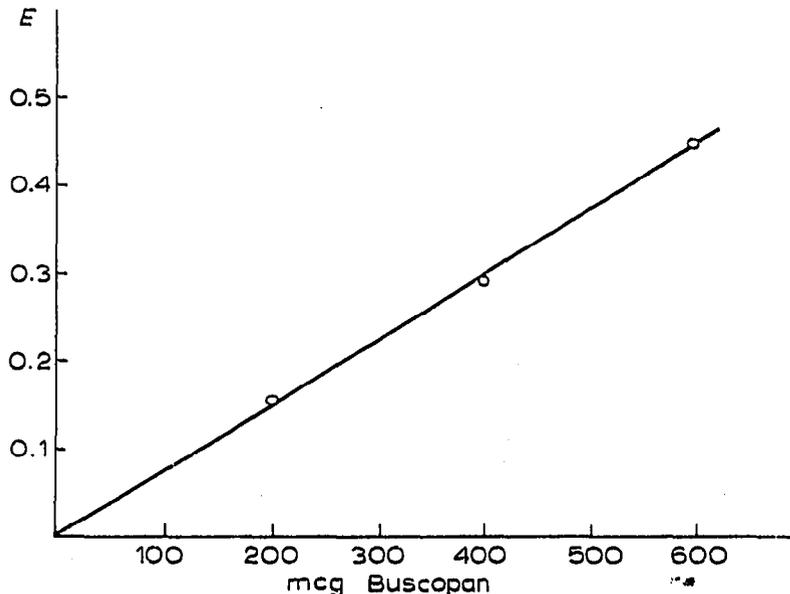


Fig. 1. Eichkurve für Buscopan. Eppendorf-Fotometer, Filter Hg 436, 2 cm Küvetten. O = Werte nach papierchromatographischer Trennung.

### Reagenzien

Pufferlösung pH 7.5: 7.5 ml 0.1 M Citronensäurelösung werden mit 0.2 M Dinatriumphosphatlösung auf 100 ml aufgefüllt.

Bromthymolblaulösung: 0.15 g Bromthymolblau und 0.15 g wasserfreies Natriumcarbonat werden in Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt.

Borsäurelösung: 5.0 g Borsäure werden mit Alkohol und 20 ml Wasser unter Erwärmen zur Lösung gebracht und mit Äthanol auf 250 ml aufgefüllt.

Äthanol ca. 96 %ig: die mit den üblichen Vergällungsmitteln (Benzol, Toluol etc.) behandelte Qualität ist verwendbar.

Chloroform: DAB-Qualität.

Wissenschaftliche Abteilung der Fa. C. H. Boehringer Sohn,  
Ingelheim am Rhein (Deutschland)

WERNER DECKERS  
ALFRED MÜLLER

1 H. TRABERT, *Naturwissenschaften*, 43 (1956) 351.

2 A. ROMEIKE, *Pharmazie*, 7 (1952) 496.

3 Vgl. T. HIGUCHI, *Pharmaceutical Analysis*, Interscience, New York, N.Y., 1961, S. 413.

Eingegangen den 29. Juli 1964